

## **Solanum dulcamara L. Yaprakları Üzerinde Kimyasal Bir Çalışma**

A chemical study on the leaves of Solanum dulcamara L.

**Engin ŞARER\***

**Turhan ÇAKIROĞLU\***

### **ÖZET**

Bu çalışmada kültüre alınmış Solanum dulcamara L. bitkisinin yapraklarında bulunan steroidal alkaloidler incelenmiştir. İnce tabaka kromatografisi yöntemiyle yaprakların 2 glukoalkaloit içerdiği saptanmış, ancak glukoalkaloitlerin hidrolizinden sonra yapılan İTK analizinde bu glukoalkaloitlerin aynı alkaminden türediği anlaşılmıştır. Alkamin izole edilerek E.N. tayin edilmiş, IR, UV ve kütle spektroskopisi yöntemleri ile yapısı aydınlatılmış ve solasodin olduğu belirlenmiştir.

### **SUMMARY**

In this research, steroidal alkaloids in the leaves of cultivated Solanum dulcamara L. were investigated.

By thin-layer chromatography was found that the leaves contain 2 glycoalkaloids, but by the thin-layer analysis after the hydrolysis of glycoalkaloids was shown that both glycoalkaloids derived from the same alkaline.

After the isolation of the alkaline its m.p. was determined. The chemical structure of the alkaline was elucidated by its ir, ms and uv analysis and it was confirmed to be solasodine.

Redaksiyona verildiği tarih: 1.8.1985

\*Farmakognози Anabilim Dalı, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi

**Anahtar kelimeler:** *Solanum dulcamara* L.; Steroidal alkaloit; Solasodin.

Steroid al hormonlar tedavide yaygın olarak kullanılan ilaçlardır. Bu ilaçların endüstriyel üretimi için steroid al sapogenoller çok uygun doğal başlangıç maddeleridir (1). Steroid al hormonların total sentezi kompleks ve pahalı bir işlemdir. Bu nedenle doğal hammadde kaynaklarından yararlanılarak gerçekleştirilen yarı sentez yöntemi, bu maddelerin üretiminde daha verimli bir yoldur. Endüstride steroid al hormon başlangıç maddelerini yüksek oranda içeren bitkilerden yararlanır. Bu bitkilerden elde edilen steroid al sapogenollerden diosgenin, hekogenin ve bir sterol olan  $\beta$ -sitosterol ile stigmasterol, steroid al hormon üretiminde kullanılan başlıca hammaddelerdendir. Diosgenin kolaylıkla ve %75'in üzerinde bir verimle seks hormonları, kontraseptif ilaçlar ve kortikosteroidlerin üretiminde kullanılan pregnadienolon asetat'a dönüşebildiğinden, bu maddenin steroid al hormon yarı sentezinde ayrı bir önemi vardır (2).

Ancak, diosgenin'den hareketle steroid al hammadde üretimi ile dünya gereksinimi karşılanamadığından yeni bitkisel kaynaklar araştırılmış ve özellikle sapogenol içeren bitkilerin yetiştirilemediği ülkelerde çalışmalar yeni başlangıç maddelerinin elde edilebileceği bitkiler üzerinde yoğunlaşmıştır. Sonuçta, steroid al alkaloitlerin de hormon yarı sentezinde kullanılabileceği anlaşılmıştır. Halen endüstride hormon üretiminde kullanılan steroid al alkaloit, diosgenin'in azotlu bir analogu olan solasodin'dir. Solasodin'den hareketle ve diosgenin üzerinde yapılabilecek eşit bir işlemde kolayca steroid al hormonlara geçilebilmektedir.

Ayrıca, yapılan araştırmalar sonucunda tomatidin ve tomatidenol steroid al alkaloitlerinden de hormon yarısentezinde yararlanılabileceği ortaya konmuştur.

Steroid al alkaloitler bitkilerde genellikle glukoalkaloitler (glukozit) halinde, nadiren serbest (alkamin) halde bulunurlar (3, 4, 5).

Solasodin alkamini *Soianaceae* familyasının *Solanum* cinsine ait bitkilerde bulunmaktadır. Bu alkaloidin *Solanum* cinsinin 60'tan fazla türünde ve bu bitkilerin özellikle yapraklarında bulunduğu belirlenmiştir (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12). Bitkilerin yapraklarındaki solasodin miktarı türlere, genetik faktörlere, iklim ve çevre şartlarına bağlı ola-

## Solanum dulcamara L. Yaprakları Üzerinde Kimyasal Bir.

rak % 0.1-4.4 arasında değişmektedir (2, 13) ve endüstriyel hormon üretimi için bu alkaloidi yüksek oranda içeren (kuru herba üzerinden % 0.90 - 2.80) doğal ya da kültüre alınmış *Solanum laciniatum* ve *Solanum aviculare* gibi bitkiler kullanılmaktadır (2, 8).

*Solanum* cinsine ait türlerden 4 tanesi ülkemizde doğal olarak yetişmektedir (14). Bunlar *S.dulcamara L.*, *S.luteum Mill.*, *S.alatum Moench*, *S.nigrum L.* dur. Anadolu kaynaklı bu türlerin yaprakları üzerinde günümüze değin yapılmış kimyasal bir çalışma bulunmamaktadır. Bu türler üzerinde yapacağımız çalışmaların başlangıcı olarak kültüre alınmış bir *Solanum dulcamara L.* örneğinin yapraklarındaki steroidal alkaloidleri belirlemek üzere çalışmalar yaptık.

## DENEL KISIM

### Materyal:

Üzerinde araştırma yapılan materyal, A.Ü. Fen Fakültesi Botanik Bahçesinde kültüre alınan *Solanum dulcamara L.*'nin kurutulmuş yapraklarıdır.

### Metod:

Materyaldeki steroidal alkaloidleri belirlemek üzere;

- Glukoalkaloitler sıcakta etanolle tüketilmiş,
- Glukoalkaloitlerin Silikagel G (Merck) ile kaplı plaklarda ince tabaka kromatografisi ile analizi yapılmış,
- Glukoalkaloitlerin hidrolizi ile elde edilen alkaminin ince tabaka kromatografisi ile analizi yapılmış,
- Kristallendirme ile saflaştırılan alkaminin ergime noktası tayin edilip IR, UV ve kütle spektroskopisi yöntemleriyle yapısı aydınlatılmıştır.

Uygulamalar sırasında alkaminin ergime noktası "Electrothermal" ergime noktası tayin cihazında tayin edilmiştir, IR spektrumu "Perkin Elmer 1330 Model Spectrometer" ile, UV spektrumu "Perkin Elmer Lambda 5 Model UV Spectrometer" ile, kütle spektrumu ise "Finnigan Mat 1020 Automated MS Model Spectrometer" ile alınmıştır.

### **Glukoalkaloitlerin tüketilmesi:**

Kurutulup toz edilen *S.dulcamara L.* yaprakları (480g), % 95 lik etanol ile sıcakta 6 saat süreyle tüketildi (15). Ekstre yoğunlaştırıldıktan sonra % 2 lik asetik asit ile reçineli maddeler uzaklaştırıldı. Ekstre 70°C ye kadar ısıtılıp, % 25 lik amonyak çözeltisi ilâvesiyle ham glukoalkaloitler çöktürüldü. Çökelek % 6 lık asetik asitte çözülüp, amonyak çözeltisi ile tekrar çöktürüldü.

Literatür verilerine göre *S.dulcamara* steroidal saponozit de içermektedir (16, 17). Bu nedenle çökeleğe alkaloid ve saponozit testleri uygulandı ve çökeleğe az da olsa saponozit karıştığı anlaşıldı. Tekrarlanan çöktürmelerle çökelek saponozitlerden kurtarılmaya çalışıldı.

### **Glukoalkaloit karışımının ince tabaka kromatografisi ile analizi:**

20x20 cm boyutlarındaki Silikagel G (Merck) 7731 ile kaplı plaklar (0.25 mm) üzerinde ve literatürdeki değişik çözücü sistemleri denenerek, glukoalkaloitler analiz edildi (10, 18, 19, 20, 21). Bu sistemler arasında en iyi ayırım kloroform: etanol: % 1 lik amonyak (3:3:1, alt faz) ile gerçekleşti. Uygulama 17°C de yapıldı ve plaklar 15 cm yürütüldü.

Belirteç olarak Dragendorff, % 50 lik sülfürik asit ve Kaegi-Miescher kullanıldı. Dragendorff belirteci genel alkaloid belirteci olduğundan, sülfürik asit belirteci steroidal alkaloidlerle karakteristik renkler verdiğinden, Kaegi-Miescher belirteci ise steroidal saponozitlerle, steroidal alkaloidlerin ayırdedilmelerini sağlamak amacıyla kullanıldı. Steroidal saponozitler Kaegi-Miescher belirteci ile UV'de floresans vermeyen soluk sarı bir renk, steroidal alkaloidler ise UV'de floresans veren ve ısıtılmakla pembeden koyu maviye kadar değişen renkler verirler (10) (Krom. 1 ve 2).

### **Glukoalkaloitlerin hidrolizi:**

28 Ham glukoalkaloit karışımı *S.dulcamara* için literatürde verilen yonteme (17) uyularak, etanol ve % 10 luk HG1 karışımı ile 3 saat süreyle hidroliz edildi. Sıcak su ilâve edilerek birkaç saat kendi haline bırakıldı. Çöken alkamin hidroklorürleri süzülerek ayrıldı.

**Serbest alkaminin çöktürülmesi:**

Elde edilen alkamin hidroklorür, karışma olasılığı olan sapogenollerini uzaklaştırmak amacıyla sıcak kloroform ile çalkalanarak tüketildi (7). Temizlenen alkamin hidroklorür % 80 lik metanolle tüketilip, % 25 lik amonyak çözeltisi ile pH: 9-10'a ayarlandı. 70°C ye kadar ısıtılıp, sıcak su ilâve edilerek ham alkamin çöktürüldü (17, 22).

**Alkaminin ince tabaka kromatografisi ile analizi:**

Bu analiz sırasında kloroform: metanol (19:1) çözücü sistemi ve Kaegi-Miescher, % 50 sülfürik asit belirteçlerinden yararlanıldı. Uygulama 21 °C de yapıldı ve plaklar 15 cm yürütüldü.

Sülfürik asit belirteci alkaminler ile karakteristik renkler vererek, yapıları çok yakın olan alkaminlerin ayırılmasını sağlayan bir belirteç olması nedeniyle kullanıldı ve plaklar 80 - 300 °C arasında ısıtılarak alkamin lekeleri test edildi (23) (Krom. 3 ve 4).

**Alkaminin saflaştırılması:**

Alkaminin ince tabaka kromatografisi ile analizinde steroidal sapogenol ve "dien" lekeleri gözlemlendiği için, alkamini temizlemek üzere su ve metanolden kristallendirildi. Ve elde edilen alkamin kristallerinin ince tabaka plağında verdiği leke, standart solasodininki ile karşılaştırıldı (Krom. 5).

**Alkaminin ergime noktasının tayini:**

Elde edilen alkaminin ergime noktası 199-200°C olarak saptandı. Ve bu değer literatür verileriyle karşılaştırıldı.

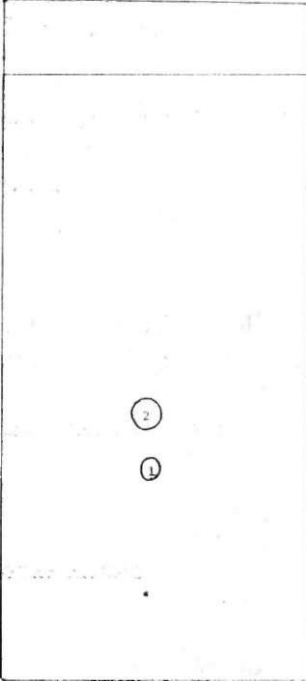
**Alkaminin spektral yöntemlerle analizi:**

Alkaminin kesin tanısını yapmak amacıyla IR, UV, kütle spektroskopisi gibi yöntemlerden yararlanıldı. Ve sonuçlar saf solasodin için bulunan değerlerle (24) karşılaştırıldı.

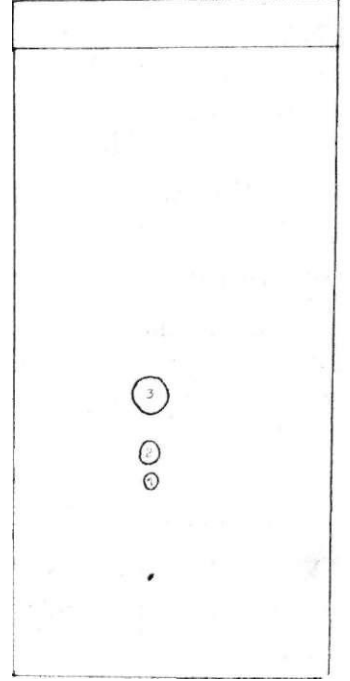
**SONUÇ ve TARTIŞMA**

*Solanum dulcamara L.* yapraklarından izole edilen ham glukoalkaloitlerin (3.35 g) ince tabaka kromatografisiyle analizi sonucu elde edilen kromatogramlar aşağıda görülmektedir (Krom. 1 ve 2).

Belirteç olarak % 50 lik sülfürik asit çözeltisi kullanıldığında  $R_{f_1}$ : 0.23 ve  $R_{f_2}$ : 0.33 de pembe renkli 2 steroidal alkaloid lekesi (Krom.1), Dragendorff belirteci kullanıldığında aynı  $R_f$  değerlerinde turuncu renkli 2 leke, Kaegi-Miescher belirteci kullanıldığında ise  $R_{fi}$ : 0.17 de UV'de floresans vermeyen soluk sarı renkli steroidal saponozit,  $R_{f_2}$ : 0.23 ve  $R_{f_3}$ : 0.33 de ise UV'de floresans veren mavimsiyemiş renkli steroidal alkaloid lekeleri görülmüştür.



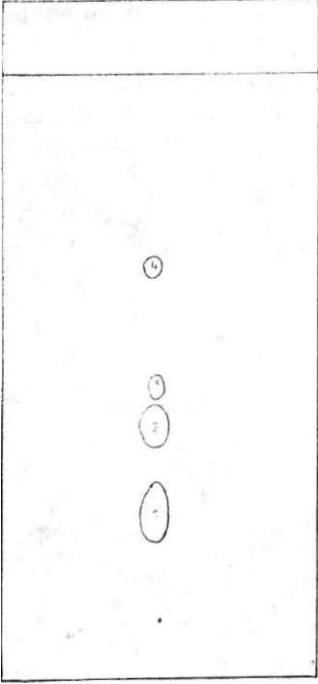
Krom. 1: Glukoalkaloitlerin ince tabaka kromatogramı  
Belirteç: % 50  $H_2SO_4$   
1 ve 2: glukoalkaloit (pembe)



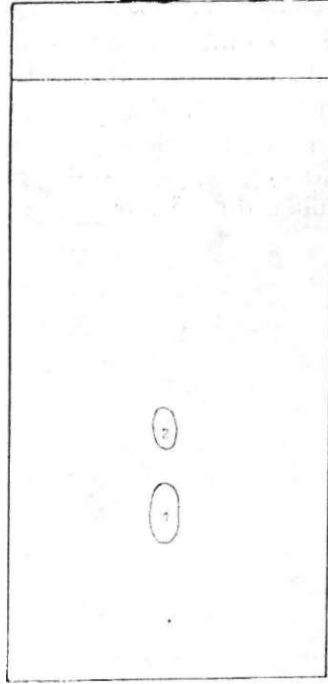
Krom. 2: Glukoalkaloitlerin ince tabaka kromatogramı  
Belirteç: Kaegi-Miescher  
1: Steroidal saponozit (soluk sarı)  
2 ve 3: Glukoalkaloit (mavimsi-yeşil)

Glukoalkaloitlerin hidrolizi sonucunda elde edilen alkaminin (2 g ham glukoalkaloitten 330 mg) ince tabaka kromatogramları ise

Krom.3 ve Krom.4'de görülmektedir. Kromatogramlarda  $Rf_1$ : 0.20 ve  $Rf_2$ : 0.36'da olmak üzere 2 alkamin lekesi görülmüştür. 3 ve 4 numaralı lekeler ise sarı renkte görülen sapogenol lekeleridir.



Krom. 3: Alkaminin ince tabaka kromatogramı  
Belirteç: Kaegi-Miescher  
1 ve 2: alkamin (mavi)  
3 ve 4: sapogenol (sarı)

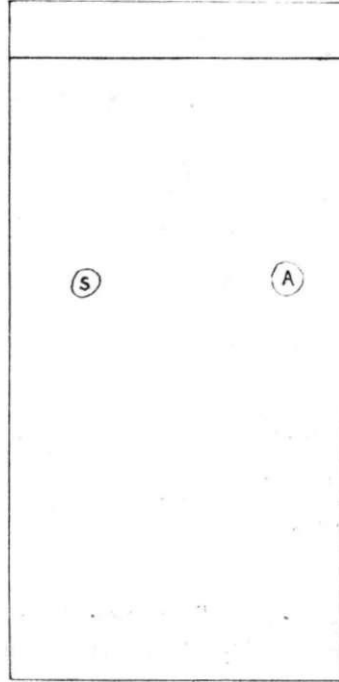


Krom. 4: Alkaminin ince tabaka kromatogramı  
Belirteç: % 50  $H_2SO_4$   
1: alkamin (erguvan)  
2: alkamin-dien (koyu erguvan)

Yapıları çok yakın olan alkaminler ile  $80^{\circ}$ - $300^{\circ}C$  ler arasında karakteristik renkler veren  $H_2SO_4$  belirteci kullanılması sonucunda ince tabaka plağında oluşan renkler incelendiğinde, alkamin lekelerinin renginin sadece solasodin'in rengine uyduğu gözlenmiştir.  $110$  saniyede ve  $105^{\circ}C$  de ortaya çıkan pembe renk ( $Rf_1$ : 0.20), sıcaklığın artırılması ile erguvan rengine dönüşmüştür.  $Rf_2$ : 0.36 daki daha koyu erguvan renkteki leke, *S.dulcamarda* bulunması mümkün olan

tomatidenol ve soladulsidin alkaminlerinin renk testine uymadığından, glukoalkaloitlerin hidrolizi sırasında bir hidroliz ürünü olan "dien" oluştuğu ve "dien'lerin" daha büyük Rf değerine sahip olduğu bilin- diğinden (2, 10) Rf: 0.36 daki lekenin ayrı bir alkamin olmayıp, hid- roliz ürünü olan bir "dien" olduğu sonucuna varıldı.

Sapogenol lekeleri de görülen alkaminin saflaştırılmasıyla elde edilen kristaller ince tabaka plağında standart solasodin ile karşılaştı- rıldığında; elde edilen kristallerin tek leke verdiği, bu lekenin stan- dard ile aynı Rf değerine sahip olduğu (25°C Rf: 0,60), Kaegi-Mie- seher belirteci ile sapogenol ve "dien" içermediği ve sülfürik asit belirteci ile yapılan renk testine de standart ile aynı cevabı verdiği görülmüştür (Krom.5).



Krom. 5: Alkaminin İTK da standart solasodin ile karşılaştırılması  
Belirteç: Kaegi-Miescher  
Sıcaklık: 25°C  
S : Standart solasodin  
A : Alkamin



Bu sonuçlara göre bitkisel materyalde bulunan 2 glukoalkaloidin aynı alkaminden türedikleri anlaşılmıştır.

Literatür verilerine göre solasodin için saptanan ergime noktaları: 197-198°C, 201°C, 198-200°C dir (10, 17, 25).

Materyalden elde edilen saf alkamin için bulunan değer (E.N.: 199-200°C) literatür verilerine uymaktadır.

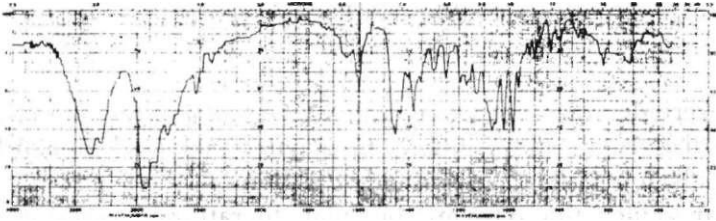
Alkaminin spektral yöntemlerle analizi sonucu spektrumlarda saptanan değerler aşağıda verilmiştir;

IR spektrumu (KBr): 10.3, 10.4, 11.2, 11.5  $\mu$  da oksoazospiran bantlar (Spektr. 1).

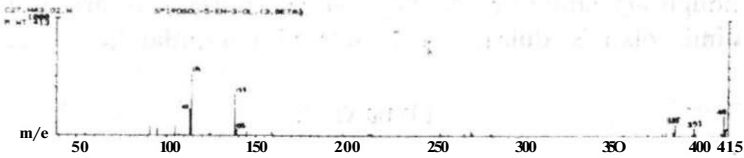
Kütle spektrumu: m/e 114, 138, 385, 398, 413 de maksimum pikler (Spektr.2)

UV spektrumu (CH<sub>3</sub>OH):  $\lambda$  maks. 208 ve 228 (Spektr.3).

Bulunan değerler literatür verilerine ve standart solasodin'in verdiği değerlere uymaktadır. Bu sonuçlar izole edilen alkaloidin solasodin olduğunu ortaya koymuştur.



Spektr. : 1 Alkaminin IR spektrumu



Spektr. : 2 Alkaminin kütle spektrumu